



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias

Departamento Bioloxía Celular e Molecular

Área de Xenética

Efecto dos campos magnéticos estáticos sobre o Sistema Nervioso Central

Efecto de los campos magnéticos estáticos sobre el Sistema Nervioso Central

Static magnetic field effect on Central Nervous System

Elisa Criado Castellanos

Trabajo fin de grado

Fecha de defensa: 29 de junio de 2015

Directores: Pablo Arias Rodríguez y Ana M. González Tizón



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULTADE DE CIENCIAS

TRABALLO FIN DE GRAO

Pablo Arias Rodríguez y Ana M. González Tizón autorizan a presentación do traballo de fin de grao
“**Efecto dos campos magnéticos estáticos sobre o SNC**” realizado por **Elisa Criado Castellanos**
para a súa defensa ante o tribunal cualificador.

En A Coruña, a 17 de Xuño de 2015

Asdo.: Pablo Arias Rodríguez

Ana M González Tizón

Directores do traballo

Índice.

1. Resumen/ Resumo/ Summary	3
2. Introducción	4
3. Objetivos/ Obxectivos /Objectives	7
4. Material y/e métodos	7
5. Resultados	10
6. Discusión	14
7. Conclusiones/Conclusións/Conclusions.....	16
8. Agradecimientos/Agradecementos.....	17
9. Bibliografía/References.....	18

1. Resumen.

La estimulación magnética transcraneal estática (tEME) es una técnica no invasiva recientemente introducida en ciertos protocolos experimentales con el fin de estudiar parámetros fisiológicos o el efecto en la excitabilidad de la corteza cerebral. Estudios previos sobre la materia han permitido determinar que la EMET tiene un efecto inhibitorio sobre la excitabilidad neuronal, pero que la resultante de dicho efecto parece variar en función del circuito neuronal sometido a estudio, y de las características inhibitoras o excitadoras de las neuronas que lo integran. En el presente trabajo se estudia el efecto de la EMET sobre los circuitos inhibitorios aferentes de corta (IAC) y larga latencia (IAL), partiendo de la base de que esta inhibición se manifiesta a nivel de la corteza motora primaria M1 (área 4 o área de Brodman) durante un periodo de tiempo superior al tiempo de aplicación. Para ello se diseñó un protocolo básico que fue aplicado a ocho sujetos sanos y conscientes. La evaluación de la funcionalidad de los circuitos responsables de la IAC y IAL de los circuitos inhibitorios fue llevada a cabo mediante estimulación eléctrica del nervio mediano, y la inducción de los potenciales motores en el primer músculo dorsal interóseo (PDI) mediante estimulación magnética transcraneal (EMT) de la corteza motora contralateral. Los resultados obtenidos indicaron que la inducción EMET no afecta a los circuitos inhibitorios explorados.

Summary.

Transcranial static magnetic field stimulation (tSMS) is a non invasive technique widely used in certain protocols whose purpose is either studying some physiological parameters or determine magnetic fields influence on neural excitability. Previous researches on the matter determined a reduction of corticospinal excitability, but this effect might be dependent on neuronal circuits features. In the present work we study the transcranial static magnetic field stimulation (tSMS) effect on inhibitory afferent circuits of sort (SAI) and long latency (LAI), identifying this inhibition to be appreciated on primary motor cortex M1 (area 4 or Brodman's area) for a time period that outlasts the time of application. A standard protocol was designed and applied to eight healthy and conscious volunteers. Afferent inhibition was evaluated by the combination of electric stimulation on the median nerve, and motor potentials in the first dorsal interosseous induced by transcranial magnetic stimulation (TMS). Results revealed an absence of effect of tSMS on the inhibitory circuits explored.

2. Introducción.

Para la realización de los movimientos es esencial la adecuada integración entre comandos motores e información sensorial. Dicha integración se produce en distintos niveles del sistema nervioso central (SNC); la corteza cerebral es esencial para dicha integración, pues se encuentra relacionada no sólo con la organización del movimiento si no también con aquellas funciones cognitivas asociadas al mismo.

La zona cortical de interés de este trabajo es la propia corteza motora primaria (M1, área 4 o área de Brodman), que contiene una gran multitud de conexiones eferentes hacia la médula, y, al mismo tiempo, recibe aferencias desde estructuras sensoriales. Con cada contracción muscular, se estimulan múltiples estructuras sensitivas que informan a la corteza de la acción motora mediante vías aferentes. Es decir, de cierto modo las eferencias motoras enviadas por la corteza motora primaria están influenciadas por las aferencias sensoriales, pudiendo determinar así la presencia de un bucle motor → sensorial → motor. El estudio de esta función se puede realizar a través de técnicas neurofisiológicas. Si se estimula la corteza motora primaria mediante la aplicación de estimulación magnética transcraneal (EMTsimple) y, a su vez, se aplica un estímulo eléctrico periférico, se pueden estudiar ciertos aspectos de la integración sensitivo-motora (Cudeiro, J. *et al.*, 2015). Para evaluar esta función se utiliza la combinación de la estimulación magnética transcraneal y la estimulación eléctrica nerviosa a nivel periférico.

Estimulación Magnética Transcraneal (EMT)

La estimulación magnética está basada en el principio de la estimulación electromagnética inicialmente descrita por Faraday en 1831; en base a ésta, la aplicación de una corriente eléctrica a través de una bobina compuesta por material conductor generará un campo magnético variable en el tiempo. Dicho campo magnético en contacto con un tejido biológico excitable dará pie a un campo eléctrico cuya dirección de corriente es contraria a la de la bobina de estimulación (Figura 1). Este campo eléctrico tendrá efectos ponderables a nivel cortical (Cudeiro *et al.*, 2015). Se ha probado que el campo magnético induce corrientes eléctricas en sentido opuesto al originado en la bobina, fluyendo tangencialmente respecto a la posición cortical. El voltaje de la corriente primaria así como la geometría de la bobina determinarán la intensidad y forma del campo magnético, influyendo a su vez en la profundidad alcanzada por el mismo. Se acepta por lo general que el pulso de estimulación puede afectar a puntos corticales localizados a 2-3 cm de profundidad. Las bobinas de forma circular, así como las denominadas “bobinas en forma de ocho” son las más empleadas en los casos clínicos (Arias, P., Espinosa, N. *et al.* 2011). Si la intensidad de estimulación es suficiente se podrá generar un potencial evocado motor (PEM) en un músculo, cuando el área estimulada es la representación cortical en M1 de dicho músculo. La amplitud de dicho potencial motor evocado permitirá establecer la excitabilidad asociada al tracto corticoespinal estimulado, y ésta depende tanto de la propia excitabilidad de la corteza motora como de las motoneuronas implicadas a nivel espinal.

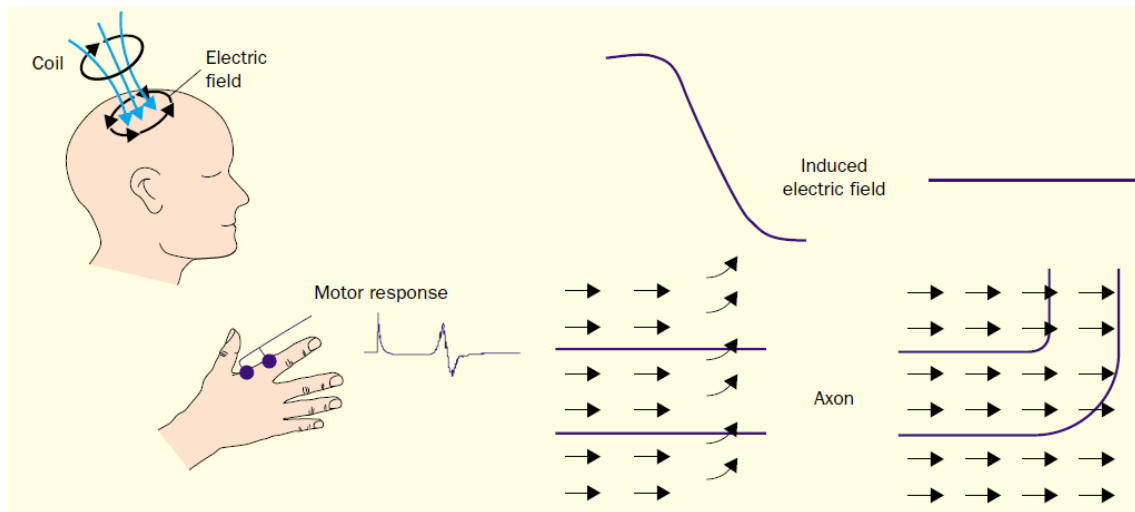


Figura 1. Principio de la EMT. Izquierda: la corriente que fluye brevemente en la bobina genera un campo magnético que, a su vez, induce un campo eléctrico en el tejido cuya dirección es opuesta a la de la bobina. Medio: ilustración esquemática del flujo de corriente debido al campo eléctrico inducido que cambia a lo largo de la longitud de una fibra nerviosa y resulta en una corriente transmembrana. **Tomado de Kobayashi, M. et al., 2003.**

En el presente trabajo se hace uso de una bobina en forma de ocho (Figura 2). Este tipo de bobinas están formadas por dos estructuras devanadas situadas adyacentemente. La corriente magnética inducida en el tejido alcanza su máxima intensidad en aquella región en la que confluyen ambos anillos. De esta manera se consigue una estimulación de muy buena definición espacial. La efectividad de dicha estimulación, sin embargo, se ve fuertemente influenciada por la orientación de la bobina. La estimulación magnética transcraneal (mediante un solo pulso (EMT_{SIMPLE}) puede ser utilizada para evaluar las características de circuitos excitadores intracorticales/inhibidores, así como para aportar información acerca de la fisiología cerebral y de la fisiopatología de ciertas enfermedades neuropsiquiátricas (Rossini, P. M. et al., 2007).

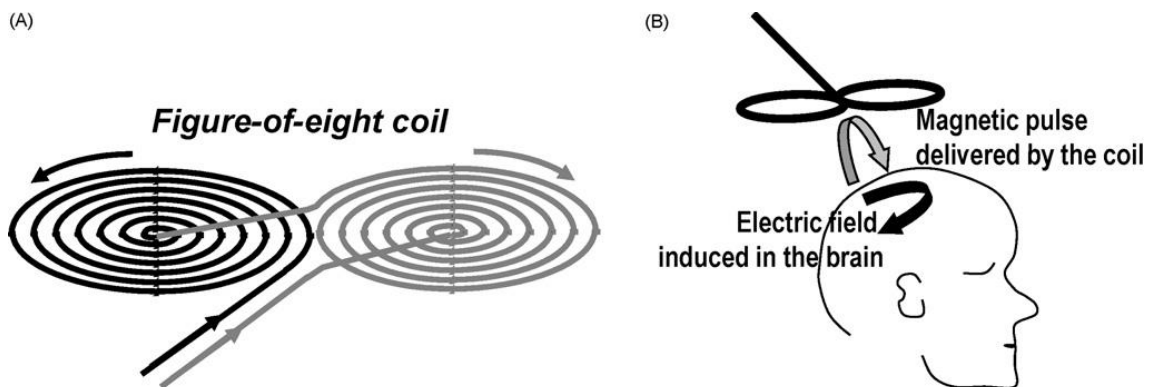


Figura 2. A) Dirección de la corriente de alta intensidad descargada que fluye a través de la bobina en forma de ocho. B) Se genera un campo magnético breve y las líneas de fuerza son perpendiculares a la dirección de la corriente que circula en la bobina. **Tomado de Lefaucheur, J.P., 2008.**

La estimulación magnética transcraneal aplicada de forma repetitiva (rEMT) se viene utilizando en neurociencia como herramienta de tratamiento en desórdenes tales como la depresión o la esquizofrenia (Daskalakis et al., 2002). Ello es debido a que dicho modo de aplicación tiene la capacidad de modular la actividad cerebral; por tanto es considerada una técnica con gran potencial terapéutico en alteraciones neurológicas y psiquiátricas tales como la depresión, transtorno obsesivo compulsivo, y el íctus (Daskalakis et al., 2002; Chen and Udupa 2009).

Evaluación de la Excitabilidad del tracto Cortico-Espinal mediante EMT_{SIMPLE}

Así, la estimulación magnética transcraneal se trata de una técnica no invasiva, indolora y reversible introducida a nivel clínico en 1985 por Anthony Baker, cuya capacidad para generar corrientes permite registrar potenciales y evaluar posibles cambios de excitabilidad de estructuras nerviosas y circuitos funcionales. El empleo de este tipo de técnicas permite evaluar varios parámetros (Arias *et al*, 2011), entre los que se pueden nombrar:

- Umbral motor: mínima intensidad de estímulo capaz de desencadenar actividad motora en un músculo bien en reposo bien contraído, reflejando con ello la excitabilidad del sistema corticoespinal.
- PEM: aumenta en proporción directa con la intensidad del estímulo.
- Periodo de silencio cortical postestimulación: periodo de silencio electromiográfico posterior al potencial muscular registrado durante una contracción voluntaria isométrica; la duración de este periodo de silencio se emplea como un índice de la funcionalidad de los mecanismos inhibitorios corticales.

En este trabajo se aplica EMT_{SIMPLE} para registrar el PEM sobre un músculo de la mano inervado por el nervio cubital.

Estudios previos han aportado las bases para determinar que la amplitud del PEM registrado tiende a reducirse ante la presencia previa de un estímulo eléctrico sobre otro nervio de la misma mano (Figura 3). El grado de reducción de la amplitud es variable, atendiendo al intervalo de tiempo que separa la aplicación del estímulo eléctrico de la aplicación del estímulo magnético transcraneal sobre M1. Los circuitos inhibitorios que participan en este proceso pueden diferenciarse en dos: inhibición aferente de corta latencia (IAC) y de larga latencia (IAL). La principal diferencia entre ellos radica en el intervalo de tiempo que separa ambos estímulos, magnético y eléctrico. Durante el circuito de inhibición aferente de corta latencia (IAC) este tiempo es de aproximadamente 20 ms, y en este caso puede apreciarse que el PEM se reduce visiblemente de tamaño. Durante el circuito de inhibición aferente de larga latencia (IAL), por su parte, el tiempo es superior, pudiendo hablar de un amplio rango de valores entre 100 y 200 ms y, en la gran mayoría de los casos, se registra una reducción de la amplitud del PEM. La IAC está mediada por circuitos colinérgicos, los circuitos responsables de la IAL son por el momento desconocidos.

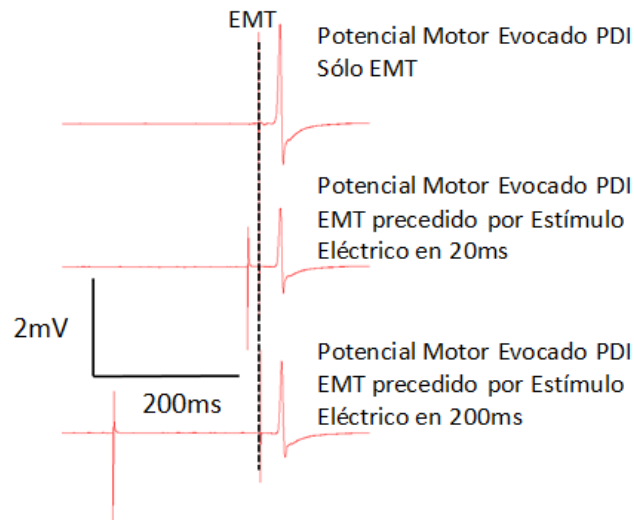


Figura 3. Reducción de la amplitud del potencial evocado motor (PEM) registrado mediante EMT cuando se aplica un estímulo eléctrico con una anticipación de 20 ms (IAC) o 200 ms (IAL). **Tomado de Cudeiro, J. et al., 2015.**

Estudios realizados sobre personas afectadas con enfermedades neurodegenerativas, como el Parkinson, han dado a entender que, ante la obtención de resultados disímiles para IAL y IAC, los mecanismos que regulan estos dos circuitos inhibitorios son distintos. El circuito de inhibición aferente de corta latencia (IAC) probablemente representa una interacción directa entre la corteza somatosensorial y la corteza motora. El circuito de inhibición aferente de larga latencia (IAL), por su parte, está probablemente involucrado en otras vías como las de los ganglios basales o las áreas corticales asociativas (Sailer *et al.*, 2003).

Evaluación del efecto de EMEt sobre la excitabilidad neuronal y la amplitud de los potenciales neuronales.

Por otra parte, la denominada EMEt ha demostrado efectiva para modular la excitabilidad de ciertas estructuras neuronales. Este tipo de estimulación emplea pequeños imanes que permiten modular la excitabilidad neuronal de manera reversible, indolora y no invasiva. Además, la EMEt abarca gran parte de las características de una buena técnica neuroestimuladora: parece ser efectiva, tiene un efecto reversible, es segura y económica, es sencilla, es fácilmente imitable por un sham y no requiere de habilidades experimentales específicas (Rivadulla, C. *et al.* 2013).

Se ha sugerido que la aplicación de este tipo de estímulos modifica la excitabilidad neuronal actuando principalmente a nivel sináptico. El principal efecto podría radicar en la alteración de la funcionalidad de los canales iónicos de la membrana neuronal. Por otra parte, la excitabilidad de la corteza motora expuesta a la tEME se ve afectada durante un periodo de tiempo, medido en minutos, superior al tiempo de aplicación del campo magnético; este hecho es directamente dependiente de la duración del estímulo. El cambio de excitabilidad es además independiente de la polaridad de dicho campo magnético (Oliviero *et al.*, 2011; Cudeiro *et al.*, 2015).

Los campos magnéticos estáticos originados mediante este tipo de estimulación, al contrario de lo que ocurre con los campos magnéticos variables en el tiempo, no inducen corrientes eléctricas por sí mismos e influyen en una gran variedad de sistemas biológicos. El campo magnético generado por los imanes es lo suficientemente fuerte para alcanzar la mayoría de los puntos corticales de interés, siendo el flujo magnético de los mismos perpendicular a la superficie cortical. El punto de referencia será en todo momento el centro del cilindro magnético. Una estrategia que permite incrementar la fuerza total del imán, y por lo tanto favorecer la densidad del flujo magnético, es incrementar el diámetro del mismo. La desventaja de esta estrategia es la pérdida de focalidad, por lo que existe una alternativa que consiste en aumentar el grosor del imán. El imán más adecuado para cada aplicación clínica específica dependerá por lo tanto de la compensación entre la fuerza y la focalidad (Rivadulla, C. *et al.* 2013).

Se ha determinado con anterioridad que la estimulación magnética transcraneal estática (tEME) es segura para su aplicación en humanos (Oliviero *et al.*, 2014). Esto ha dado pie a que este tipo de técnicas sean cada vez más empleadas en el tratamiento de desórdenes neuropsiquiátricos.

Hipótesis.

Los efectos de la aplicación del tEME sobre la excitabilidad de la corteza motora son conocidos (Oliviero *et al.*, 2011), si bien se desconoce el efecto de estos campos magnéticos generados sobre los circuitos corticales generadores de IAC e IAL. Este estudio preliminar plantea la hipótesis de que aquellos circuitos responsables de generar los potenciales inhibitorios IAC y la IAL se verán modulados por la aplicación de tEME sobre M1.

3. Objetivos.

1. Comprobar el efecto de la aplicación EMEt sobre la excitabilidad del tracto cortico-espinal.
2. Determinar el efecto de la aplicación tEME sobre los circuitos inhibitorios IAC.
3. Determinar el efecto de la aplicación tEME sobre los circuitos inhibitorios IAL.

4. Material y métodos.

Sujetos.

Se realizó un total de 8 pruebas experimentales individuales sobre 8 sujetos voluntarios (3 hombres y 5 mujeres con edades comprendidas entre los 21 y los 25 años). Se comprobó que todos ellos fueran sujetos sanos carentes de algún tipo de desorden neurológico, y que no hubiesen sufrido operaciones quirúrgicas que implicasen la implantación de placas craneales de cualquier tipo. Todos los sujetos eran diestros o ambidiestros y fueron informados previamente del protocolo a realizar, asegurando en todo momento contar con su consentimiento. El protocolo se realizó acorde a la *Declaración de Helsinki*.

Estimulación magnética simple transcraneal de la corteza motora (tEME)

Para este tipo de estimulación se empleó un imán de níquel y cobre (Ni-Cu-Ni) de con un diámetro de 45 mm, una anchura de 30 mm y un peso de 360 gramos (modelo S-45; Supermagnete, Gottmadingen, Alemania) (Figura 4). La cantidad máxima de energía magnética almacenada en este imán es de 45 MGOe (megagauss-oersteds), con una fuerza nominal de 765 N (78 Kg). Partiendo de la constancia de que la polaridad magnética no afecta al resultado de la estimulación sobre la excitabilidad neuronal, se empleó exclusivamente la polaridad norte. Durante el periodo de estimulación, el imán fue sostenido sobre la región motora controladora del primer músculo dorsal interóseo izquierdo (PDI). Durante el desarrollo experimental se empleó como sistema *placebo* un cilindro de dimensiones y peso idénticos al imán.

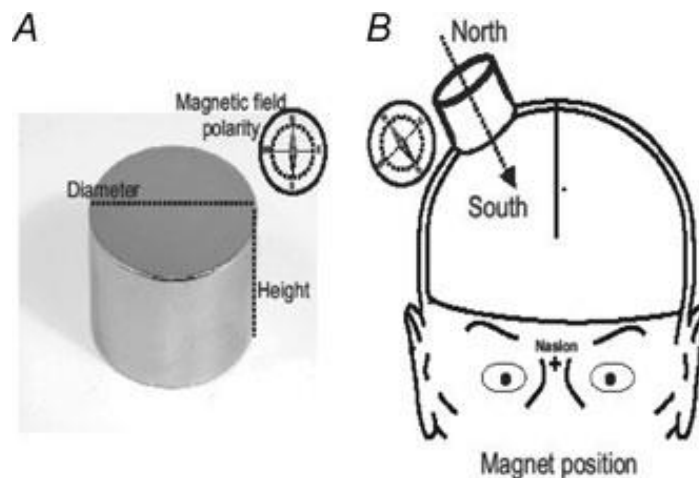


Figura 4. El imán y su posición. A) imán, B) ilustración esquemática de la posición del imán sobre la representación cortical de la mano (hot spot). **Tomado de Oliviero, A. et al., 2011.**

Medida de la excitabilidad de la corteza motora mediante EMT_{SIMPLE}.

El potencial evocado motor (PEM) fue registrado en el primer músculo dorsal interóseo izquierdo (PDI) mediante un pulso simple de EMT_{SIMPLE}. La inducción de estos pulsos se realizó empleando el estimulador magnético Magstim 200 (Compañía Magstim, Whiteland, Dyfed, UK) y una bobina en forma de ocho (Figura 5).

Así, durante la totalidad del procedimiento experimental, la bobina fue sostenida tangencialmente al cráneo, a unos 45 grados aproximados de la situación de la línea media. Para determinar la posición más adecuada de la bobina se tomó como referencia aquel punto en el que se obtenía el PEM de mayor amplitud para una intensidad fija. Los datos electromiográficos se recogieron empleando electrodos adhesivos, un amplificador Digitimer D360 y fueron almacenados informáticamente. Posteriormente, se realizó un análisis de los datos mediante el conversor CED 1401 A/D.

Estimulación eléctrica.

La estimulación eléctrica utilizada como estímulo condicionante del potencial, fue aplicada al nervio mediano, en la muñeca con electrodos estándar y el cátodo

posicionado proximalmente. La intensidad del estímulo fue ajustada para producir una ligera contracción muscular.

Protocolo experimental.

El tipo de protocolo experimental se representa en la Figura 6, y fué empleado para analizar la respuesta de cada uno de los distintos sujetos. Éstos fueron analizados individualmente en días separados. Previamente a la aplicación del protocolo experimental, el conjunto de sujetos fue informado de la realización de dos sesiones experimentales: estimulación real y estimulación placebo, cuyo orden sería determinado al azar. Una vez finalizado el protocolo, fueron interrogados acerca de su percepción sobre el tipo de protocolo experimental (real o placebo) al que habían sido sometidos. Bajo estos condicionantes, que establecían que las expectativas de los sujetos estarían al 50% de ser estimulados en cada sesión con un protocolo activo o placebo, los sujetos fueron en todos los casos estimulados con un protocolo activo.

EMT sobre área motora del Primer Dorsal Interóseo (PDI) de la mano

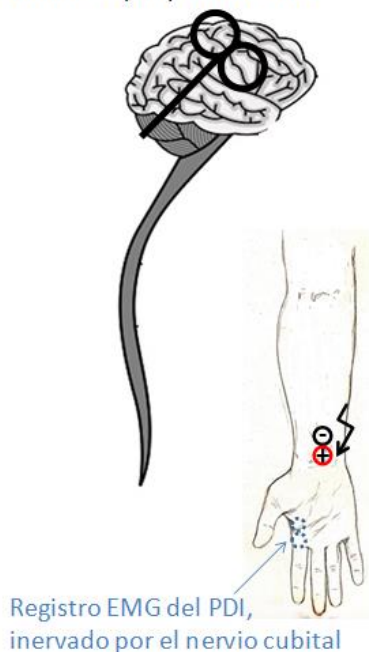


Figura 5. Representación esquemática de la posición de la bobina y de los electrodos adhesivos sobre el nervio mediano durante el protocolo experimental, de tal manera que el potencial motor del primer dorsal interóseo (PDI) pudiese ser registrado. **Tomado de Cudeiro, J. et al., 2015.**

Durante toda la duración del experimento, el voluntario permaneció sentado en una silla no reclinable, sin posibilidad de moverse ni hablar. El “hot spot” (punto cortical en el que debe colocarse la bobina para registrar así el potencial evocado motor de mayor amplitud) se identificó mediante EMT_{SIMPLE}. Este punto fue marcado sobre el cráneo con un rotulador, para permitir una ubicación constante de la bobina durante el experimento. Una vez identificado, se procedió a aplicar un total de 60 pulsos de EMT_{SIMPLE} a una intensidad que permitiese obtener una amplitud de ~1 mV en la condición TEST (en la que tan sólo se aplica EMT), y condicionando 40 de los mismos con un estímulo eléctrico previo sobre el nervio mediano (en 20 pulsos, el estímulo eléctrico se aplicó 20ms previamente a la aplicación EMT_{SIMPLE}, mientras que en los otros 20 pulsos, éste intervalo de tiempo fue de 200ms EMT simple).

Así, durante el protocolo experimental fueron alternados tres tipos de estímulos:

- 20 pulsos de EMT_{SIMPLE} (potencial TEST).
- 20 pulsos de EMT_{SIMPLE} precedidos en 20 ms por un pulso eléctrico (IAC).
- 20 pulsos de EMT_{SIMPLE} precedidos en 200 ms por un pulso eléctrico (IAL). IAL

Una vez alcanzado el total de 60 pulsos iniciales (condición PRE), se aplicó el imán durante un periodo de tiempo de 10 minutos en el mismo punto en el que se habría

aplicado el EMT_{SIMPLE}. Un segundo set de estímulos (condición POST) incluyó 60 nuevos estímulos alternos posteriores a la aplicación del imán, atendiendo al previamente mencionado protocolo. Posteriormente, se realizó una segunda aplicación del imán y de nuevo se registraron los potenciales tras la misma (condición MATCHED). Esta condición tendría como objetivo descartar que los posibles cambios observados en la amplitud del PEM condicionase la interpretación de los resultados de la aplicación del imán en la IAC y al IAL, al encontrarse el efecto del imán sobre la amplitud del propio potencial TEST. Por ello, tras esta segunda aplicación del imán, la intensidad del EMT_{SIMPLE} se incrementa de tal manera que el potencial TEST alcance unos valores similares o mayores a los de aquella amplitud presentada en la primera sesión, cuando aún no se ha expuesto al sujeto al imán. Es decir, esta segunda aplicación tiene como fin simular que el potencial TEST no ha disminuido su amplitud y, en caso de verse afectada la amplitud de aquellos PEM asociados al IAC y IAL, poder relacionarlo con la propia aplicación del imán y no a otro tipo de factores.

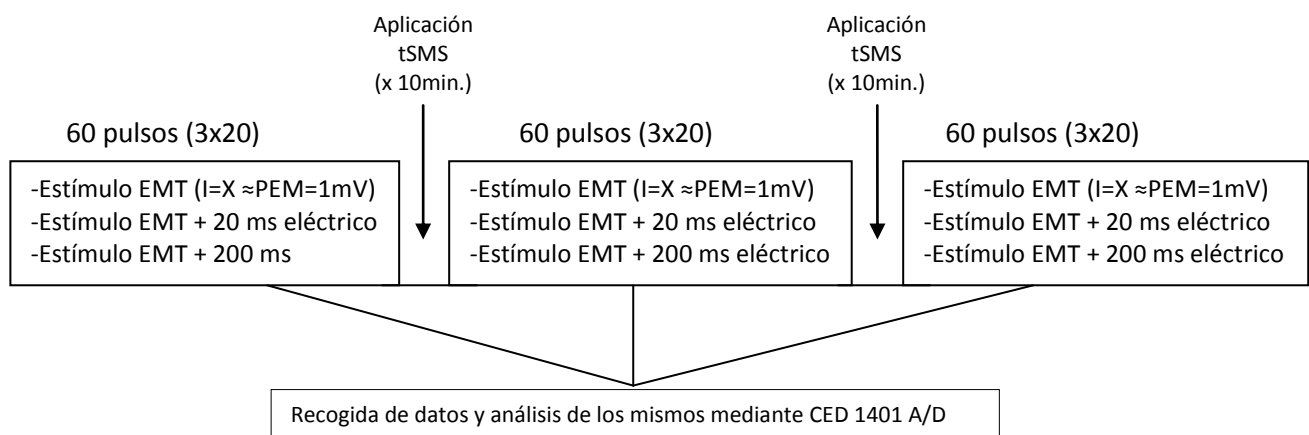


Figura 6. Esquema del protocolo desarrollado para el estudio del efecto magnético sobre los tres potenciales estudiados (TEST, IAC, IAL). EMT = Estimulación Magnética Transcraneal; PEM = Potencial Evocado Motor.

Análisis de datos.

Los datos del experimento fueron registrados y analizados empleando el sistema informático *Signal* versión 4.05. Este programa permite analizar las amplitudes de los distintos potenciales de cada una de las tres sesiones de estimulación, así como certificar que el orden de dicha estimulación es el correcto, atendiendo al previamente diseñado en el protocolo (PEM – IAC – IAL).

Análisis estadístico.

Para la realización del análisis estadístico se hizo uso del programa estadístico SPSS versión 15.0. Dicho análisis fue llevado a cabo tomando como punto de partida la condición de que la amplitud media del PEM (inducido vía Magstim 200 y previamente a cualquier tipo de aplicación magnética) se encontrara entre 0,5 y 1,5 mV. Así, de los ocho sujetos voluntarios fue necesario descartar a dos de ellos ($\bar{X}=1.84$, 0.36), de tal manera que el análisis hubo de ser realizado empleando los

datos referentes a 6 sujetos. Asumiendo que el tamaño muestral es, por lo tanto, escaso para llevar a cabo análisis estadísticos de tipo paramétrico, los datos fueron analizados mediante el test estadístico no paramétrico de Friedman, seguido de pruebas de análisis par a par (test de Wilcoxon).

Las pruebas estadísticas fueron realizadas exclusivamente para aquellos PEM correspondientes a TEST (potenciales inducidos sin estimulación eléctrica previa) y IAL (potenciales inducidos con una estimulación eléctrica inducida 200 ms antes de la estimulación magnética). El análisis de aquellos potenciales referentes al IAC se vio dificultada por la falta de precisión en el intervalo de tiempo presente entre la estimulación magnética y la eléctrica que, en este caso, es mucho más variable entre individuos que en el caso de los potenciales inhibitorios de larga latencia. Se recogieron los valores medios de los tres tipos de potenciales en las tres sesiones realizadas para cada sujeto, y estos valores fueron posteriormente normalizados en el caso de la IAL. El análisis estadístico de los potenciales TEST fue realizado en base a los valores absolutos. Por su parte, el valor de los potenciales IAL fue normalizado y expresados en relación al tamaño del potencial TEST.

5. Resultados.

Se recogieron los datos de aquellos seis sujetos a analizar, calculándose su error típico y los valores promedio de la totalidad de los potenciales TEST (valores absolutos) y de los potenciales AIL (valores normalizados) para cada una de las tres sesiones experimentales (Tabla 1). A partir de estos seis conjuntos de datos fueron realizados los análisis estadísticos no paramétricos (Test de Friedman y Test de Wilcoxon).

	Estadísticos descriptivos		Error típico
	N	Media	
	Estadístico	Estadístico	
TEST PRE	6	0.80673208	0.15192648
NOR AIL PRE	6	0.43130763	0.11402625
TEST POST	6	0.41809083	0.09852357
NOR AIL POST	6	0.54404045	0.10073666
TEST MATCHED	6	1.09812417	0.22070921
NOR AIL MATCHED	6	0.60960072	0.06915095

Tabla 1. Valores promedios y aquellos asociados al error típico de cada uno de los potenciales TEST y AIL en cada una de las sesiones experimentales realizadas (PRE, POST, MATCHED) para cada uno de los seis sujetos (N).

Resultados de la aplicación magnética sobre la amplitud del potencial no condicionado por estimulación eléctrica (TEST).

Los resultados del test de Friedman para aquellos valores de los potenciales TEST determinaron la presencia de diferencias significativas ($p\text{-valor}=0,016$) entre los potenciales TEST de las tres sesiones experimentales realizadas (Tablas 2, 3; Gráfica 1).

Rangos

	Rango promedio
TEST PRE	2,00
TEST POST	1,17
TEST MATCHED	2,83

Estadísticos de contraste(a)

N	6
Chi-cuadrado	8,333
Gl	2
Sig. asintót.	,016

a. Prueba de Friedman

Tablas 2, 3. Test de Friedman para los potenciales TEST (carencia de estímulo eléctrico previo) en cada una de las tres sesiones (PRE, POST, MATCHED). N=tamaño muestral; gl=grados de libertad; Sig. asintót. =nivel de significación asintótica.

Efecto de la aplicación magnética sobre el potencial TEST en las sesiones experimentales POST y MATCHED.

Para especificar entre cuáles de las tres sesiones sucesivas llevadas a cabo se daba dicha diferencia, se realizó una segunda prueba no paramétrica.

El test de Wilcoxon (Tabla 4) determinó que las diferencias significativas eran apreciables entre los potenciales TEST de la sesión MATCHED con ambas sesiones precedentes, PRE (p-valor=0,046) y POST (p-valor=0,028); no existiendo así diferencias significativas entre los potenciales PRE vs. POST (p-valor=0,116)

Estadísticos de contraste(c)

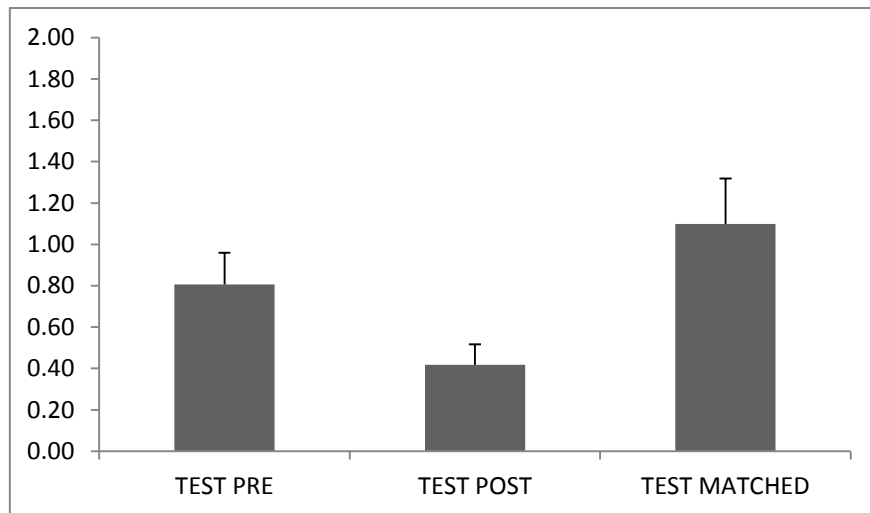
	TEST POST – TEST PRE	TEST MATCHED – TEST PRE	TEST MATCHED – TEST POST
Z	-1,572(a)	-1,992(b)	-2,201(b)
Sig. asintót. (bilateral)	,116	,046	,028

a Basado en los rangos positivos.

b Basado en los rangos negativos.

c Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

Tabla 4. Test de Wilcoxon para determinar la presencia de diferencias significativas en el valor de los potenciales TEST entre cada una de las distintas sesiones experimentales (PRE-POST, PRE-MATCHED, MATCHED-POST). Z=puntuación Z; Sig. asintót. (bilateral)= nivel de significación asintótica bilateral.



Gráfica 1. Representación gráfica de la amplitud media de los potenciales TEST (medida en mV) para cada una de las tres sesiones experimentales (PRE, POST, MATCHED) realizada.

Resultados de la aplicación del imán sobre la amplitud del potencial condicionado por un estímulo eléctrico a 200ms. Evaluación del efecto del imán en la IAL

El test de Friedman aplicado sobre los distintos valores de los potenciales IAL de cada una de las sesiones experimentales indicaron la ausencia de diferencias significativas (p -valor=0,607) entre ellos (Tablas 5, 6; Gráfica 2)

Rangos

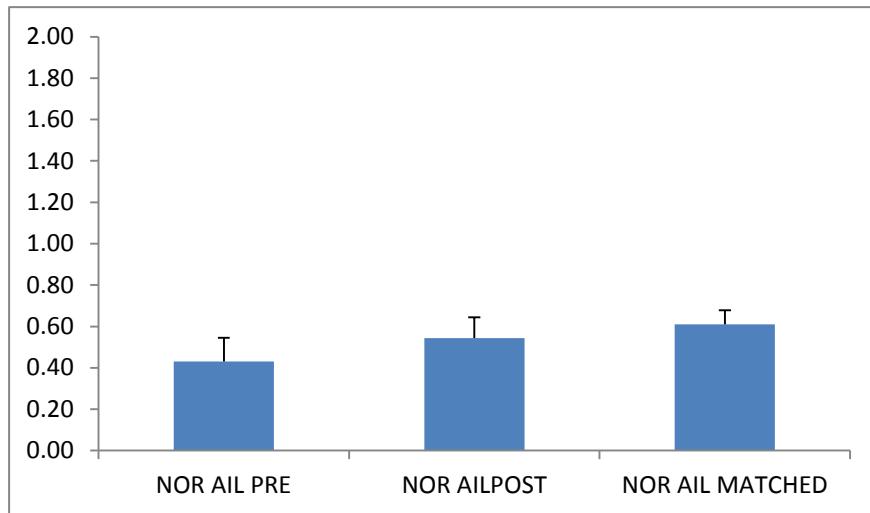
	Rango promedio
NOR IAL PRE	1,67
NOR IAL POST	2,17
NOR IAL MATCHED	2,17

Estadísticos de contraste(a)

N	6
Chi-cuadrado	1,000
Gl	2
Sig. asintót.	,607

a. Prueba de Friedman

Tablas 5, 6. Test de Friedman para los potenciales IAL (aplicación de estímulo eléctrico previo al estímulo magnético en un intervalo de 200 ms) en cada una de las tres sesiones (PRE, POST, MATCHED). N=tamaño muestral; gl=grados de libertad; Sig. asintót. =nivel de significación asintótica.



Gráfica 2. Representación gráfica de la amplitud media de los potenciales AIL (en unidades normalizadas- tanto por uno respecto al correspondiente potencial TEST) para cada una de las tres sesiones experimentales (PRE, POST, MATCHED) realizada.

Partiendo de la ausencia de diferencias significativas para aquellos potenciales IAL, se omitió el test de Wilcoxon para dichos datos.

6. Discusión

El presente es un estudio preliminar que trata de abordar los efectos de la aplicación magnética estática sobre aquellas conexiones neuronales que forman parte de los circuitos inhibitorios aferentes de larga latencia (IAL). La estimulación magnética transcraneal es un tipo de metodología empleada en condiciones tanto fisiológicas como patológicas (Barker et al., 1985; Kobayashi et al., 2003), por lo que sus efectos son conocidos a nivel corticoespinal. A lo largo del presente protocolo experimental, la EMT es empleada para analizar los efectos de la aplicación magnética estática (a través de un imán) sobre la corteza motora. Dichos efectos sobre circuitos inhibitorios no son conocidos, existiendo sin embargo estudios previos que abarcan el efecto de esta aplicación sobre potenciales no condicionados, es decir, sobre la excitabilidad cortico-espinal (Oliviero et al., 2011; Rivadulla, C. et al., 2013; Lefaucher, J. P. et al., 2009).

Así, atendiendo a los resultados obtenidos en este estudio, el grado de efectividad de la aplicación magnética estática sobre la corteza motora M1 parece ser variable para cada uno de los potenciales sometidos a estudio (TEST, IAL; IAC no pudo ser sometido a análisis), que se distinguen entre sí por la aplicación o la ausencia de estímulos eléctricos combinados a distintos tiempos con la estimulación magnética transcraneal (TMS). El pequeño tamaño muestral determinó que el análisis estadístico de los potenciales TEST y IAL fuese realizado mediante pruebas no paramétricas, específicamente mediante el test de Friedman y el test de Wilcoxon.

Efecto de la estimulación magnética estática sobre los potenciales TEST.

Nuestros análisis estadísticos no paramétricos determinaron la ausencia de diferencias significativas entre la amplitud de los PEM TEST en las dos primeras

sesiones experimentales (PRE y POST). Estos resultados sugerirían que una primera aplicación magnética de 10 minutos habría carecido de efecto sobre la excitabilidad neuronal que, si bien se habría visto reducida, no lo habría hecho en una medida significativa. Estudios previos sobre la materia, sin embargo, han llegado a la conclusión de que el efecto magnético sobre este tipo de potenciales sí es apreciable (Oliviero *et al.*, 2011; Rivadulla, C. *et al.*, 2013; Lefaucher, J. P. *et al.*, 2009). Así, nuestra ausencia de resultados significativos entre estas dos primeras sesiones experimentales podría verse explicada desde dos puntos de vista.

Por una parte, el tamaño muestral de partida fue reducido ($n=8$), descartándose posteriormente dos de los sujetos iniciales ($n=6$) cuyos valores basales diferían apreciablemente respecto al restante conjunto de datos. Este pequeño número de sujetos sometidos a estudio tendría un efecto directo sobre nuestros resultados. Los análisis estadísticos (test de Friedman y test de Wilcoxon) determinan la ausencia de diferencias significativas entre estas dos sesiones experimentales (PRE y POST), y esto podría explicarse partiendo de la base de que el p-valor es dependiente del tamaño muestral.

Por otra parte, la falta de experiencia en el uso del estimulador magnético Magstim 200 por parte de la alumna habría podido influir de manera directa en la obtención de los resultados esperados. Como ya se ha comentado previamente, es de crítica importancia que el área cortical estimulada sea exactamente la misma en cada uno de los pulsos de las tres sesiones experimentales, de tal manera las sinapsis neuronales estimuladas sean en todo momento las mismas. Una modificación de la posición de la bobina podría tener una influencia directa sobre la amplitud de los PEM registrados, y la variación de la misma podría ser explicada por la estimulación de zonas corticales disímiles y no por efecto del imán. La curva de aprendizaje en el uso de la técnica requiere aproximadamente un mes de práctica diaria, según datos empíricos en diversos laboratorios, la cual no ha sido completada en el momento de realizar los experimentos, dada las limitaciones temporales para realizar el estudio.

Los análisis estadísticos sí indicaron, por otra parte, la presencia de diferencias significativas entre la amplitud de los potenciales TEST de la tercera sesión experimental (MATCHED) respecto a las dos sesiones anteriores (PRE y POST). En esta tercera sesión, la intensidad de EMT_{SIMPLE} fue incrementada con el propósito de comprobar si la reducción en el tamaño del potencial TEST en la sesión POST tenía un efecto directo sobre los potenciales IAC y IAL evaluados tras la aplicación del imán. De esta manera, se comprobaría que la reducción de los potenciales IAC y IAL pudiese ser directamente asociada a la aplicación del imán y no a la reducción del potencial TEST en sí. Se buscó que la amplitud del potencial TEST en esta tercera sesión fuese igual o mayor a aquella obtenida en la primera sesión experimental, en la que aún no se había aplicado el imán sobre la corteza motora ($\approx 1\text{mV}$). Sin embargo, este incremento de la intensidad del estimulador dio pie a un potencial TEST de mayor amplitud a la obtenida en la primera sesión. Efectivamente, se observa (Gráfica 1) que la amplitud de los potenciales TEST es perceptiblemente mayor en la sesión MATCHED (1,09 mV) que en las dos anteriores (0,81 mV en TEST y 0,42 mV en POST). De esta manera, las diferencias significativas se atribuyen a la propia condición experimental y no a un efecto secundario de la aplicación EMEt.

Se puede concluir así que la aplicación de estímulos magnéticos transcraneales estáticos (EMEt) no parece afectar, en nuestro estudio, a aquellos potenciales que carecen de estímulos eléctricos previos (potenciales TEST). La presencia de diferencias significativas estadísticas podría explicarse desde un punto de vista metodológico ajeno a la aplicación magnética.

Efecto de la estimulación magnética estática sobre los potenciales IAC.

El efecto de EMEt no fue estudiado sobre los potenciales IAC por motivo de limitación en la disponibilidad del laboratorio.

El intervalo de tiempo empleado entre el estímulo eléctrico y el estímulo magnético posterior durante el protocolo experimental para el registro de este potencial IAC fue de 20 ms. Éste es un dato estandarizado a partir de estudios previos sobre la materia (Tokimura et al., 2000), pero varía mucho entre individuos y, como consecuencia, dicho intervalo no es óptimo ni garantiza que se produzca la inhibición en todos los sujetos. Para garantizar la efectividad de la inhibición cortical de corta latencia habría sido necesario realizar un estudio previo para cada uno de los sujetos. En este tipo de estudios se emplean potenciales somatosensoriales evocados (SEPs) para determinar la latencia N20 de cada sujeto, lo que es directamente dependiente de la longitud del brazo de cada individuo. El potencial N20 representa la llegada de las aferencias somatosensoriales al área cortical 3b, y puede por lo tanto ser empleado para ajustar el intervalo de tiempo necesario para observar el efecto inhibitorio de los circuitos IAC (Tsang, P. et al. 2014). Dado que la realización de dicho protocolo sobre cada uno de los sujetos es temporalmente costoso, se tomó el valor referenciado. Los resultados indicaron que este intervalo de tiempo de 20 ms no era el adecuado para producir una inhibición de la respuesta en los sujetos estudiados, incluso antes de aplicar el tratamiento (imán); es decir no se pudo observar el efecto inhibitorio del potencial IAC sobre el potencial TEST. Los valores de ambos potenciales fueron, por lo tanto, muy similares; por esta razón, no pudo estudiarse el efecto de EMEt sobre el potencial IAC.

Efecto de la estimulación magnética estática sobre los potenciales IAL.

La capacidad inhibitoria de los circuitos IAL sí pudo evaluarse, determinando que la aplicación de un estímulo eléctrico 200 ms antes de la aplicación de EMT provocase una reducción de la amplitud del potencial registrado.

Un efecto de la estimulación magnética transcraneal estática sobre los circuitos que controlan la acción inhibitoria de larga latencia determinaría que el potencial registrado se viese reducido en una menor amplitud (pues la capacidad inhibitoria del circuito se habría visto disminuida por efecto del imán) tras la estimulación magnética, indicando así el efecto del imán sobre las conexiones neuronales del circuito IAL. La reducción de la amplitud del potencial en la primera sesión experimental (PRE) por el estímulo aferente de larga latencia fue de aproximadamente el 40% del valor TEST, mientras que en la sesión inmediatamente posterior (POST) y aquella correspondiente a la segunda aplicación magnética (MATCHED) dicho nivel de inhibición no se modificó. Esta observación determina la ausencia de efecto de la aplicación de EMEt sobre aquellas conexiones neuronales que forman parte del circuito que controla la inhibición afrente de larga latencia.

Asimismo, los resultados estadísticos indicaron efectivamente la ausencia de diferencias significativas entre las amplitudes de este tipo de potenciales en las tres sesiones experimentales llevadas a cabo. Estos resultados respaldarían la observación inicial de que la aplicación de estímulos magnéticos carece de efecto a nivel del circuito inhibitorio de larga latencia (IAL), lo que desmiente nuestra hipótesis de partida

7. Conclusiones.

1. La aplicación de campos magnéticos estáticos sobre la corteza motora no parece modificar la excitabilidad corticoespinal en la muestra de estudio.
2. La aplicación de campos magnéticos estáticos sobre la corteza motora no modifica la capacidad inhibitoria de aquellos circuitos aferentes de larga latencia en la muestra de estudio.
3. El reducido tamaño muestral del presente estudio (n=6) podría explicar los dispares resultados de este estudio en comparación con estudios previos en la materia, cuyo mayor tamaño muestral de estudio habría sido superior.
4. Sería necesario aumentar el tamaño muestral en futuros estudios, así como llevar a cabo una caracterización individual del intervalo temporal interestímulo que permita estudiar el efecto de este tipo de aplicación sobre aquellos circuitos que controlan la inhibición aferente.

Conclusions.

1. The application of static magnetic fields on motor cortex in our sample does not modify cortico-spinal excitability.
2. The application of static magnetic fields on motor cortex in our sample does not modify inhibitory capacity of those afferent circuits of long latency.
3. The small sample size of the present study (n=6) might explain the disparity obtained of our results in regards to larger sampled works.
4. It would be necessary to increase the sample size in future studies, as long as perform an individualized characterization on interstimulus interval in order to study the effect of static magnetic field exposure on afferent inhibition.

8. Agradecimientos.

Deseo expresar mi agradecimiento a los miembros del Laboratorio NEUROcom (Grupo de Neurociencia y Control Motor) de la Facultad de Fisioterapia, en especial a Pablo Arias Rodríguez por su paciencia y comprensión, así como a Ana M. González Tizón por su ayuda en la realización del presente trabajo.

9. Bibliografía.

Barker At., Jalinous R., Freeston IL., Jarrat JA. (1986) Clinical evaluation of conduction time measurements in central motor pathways using magnetic stimulation of human brain. *Lancet* 1: 1325-36.

Chen, R., Udupa, K. (2009). Measurement and modulation of plasticity of the motor system in humans using transcranial magnetic stimulation. *Motor control*; 13: 442-53

Cudeiro Mazaira, F. J. (2015) Reeducción Funcional en la enfermedad de Parkinson. Elviesier (Barcelona), 2ª Ed; pp. 105-118.

Cudeiro, J., Arias, P., Robles, V., Corral, Y. (2015) Fundamentos de Neurociencia y Neurorrehabilitación en Terapia Ocupacional. Editorial Síntesis (Madrid), 1ª Ed.

Daskalakis, ZJ., Christensen, BK., Fitzgerald, PB., Chen, R, (2002) Transcranial magnetic stimulation: a new investigational and treatment tool in psychiatry. *J. Neuropsychiatry Clin Neurosci*; 14: 406-15

Di Lazzaro, V., Oliviero, A., Profice, P., Pennisi, M.A., Di Giovanni, S., Zito, G., Tonalti, P., Rothwell, J. C. (2000) Muscarinic receptor blockade has differential effects on the excitability of intracortical circuits in the human motor cortex. *Exp Brain Res*; 135: 455-461.

Kobayashi M., Pascual Leone A. (2003). Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurol*; 2: 145-56

Lefaucheur, J. P. (2009) Methods of therapeutic cortical stimulation. *Clinical Neurophysiology*; 39: 1-14.

Masahito, K., Pascual-Leone, A. (2003) Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurology*; 2: 145-56.

Oliviero, A., Carrasco-López, M.C., Campolo, M., Pérez-Borrego, Y. A., Soto-León, V., González-Rosa, J. J., Higuero, A. M., Strange, B. A., Abad-Rodríguez, J., Foffani, G. (2014). Safety Study of Transcranial Static Magnetic Field Stimulation (tSMS) of the Human Cortex. *Brain Stimulation*: 1-5.

Oliviero, A., Mordillo-Mateos, L., Arias, P., Panyavin, I., Foffani, G., Aguillar, J. (2011) Transcranial static magnetic field stimulation of the human motor cortex. *The Journal of Physiology*; 589.20: 4949-4958.

Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., Lamantia, A. S., McNamara, J., Williams, S. M. (2004). Neurociencia. Panamericana (Madrid). 3ª Ed.

Rivadulla, C., Foffani, G., Oliviero, A. (2013) Magnetic Field Strength and Reproducibility of Neodymium Magnets Useful for Transcranial Static Magnetic Field Stimulation of the Human Cortex. *Neuromodulation* 2014; 17: 438-442.

Rossini PM, Rossi S. (2007) Transcranial magnetic stimulation: diagnostic, therapeutic, and research potential. *Neurology*; 68: 484-8

Sailer, A., Molnar, G. F., Paradiso, G., Gunraj, C. A., Lang, A. E., Chen, R. (2003) Short and long latency afferent inhibition in Parkinson's disease. *Brain*; 126: 1883-1894.